

研 究 報 告 書  
2019 年度：A 課題

2021 年 3 月 31 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 同志社大学

住 所 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3

研究者氏名 西川 恵三



(研究課題)

エピゲノム創薬にもとづくがんの骨転移抑制薬の開発

---

2020年 1月24日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しました  
のでご報告いたします。

## 1. 研究背景と目的

がんは、日本における死因のトップであるが、がんによる重症化の要因の一つに遠隔転移がある。がんの転移には臓器特異性があり、近年、罹患者数が増加している前立腺がんや乳がんは、骨への転移能が極めて高い。がんの骨転移の進行には、骨吸収を司る破骨細胞とがん細胞との間で、相互に活性を増強し合う悪循環がかかわる。従って、破骨細胞を標的とした創薬は、がんの骨転移を抑える薬の開発において重要な位置づけにある。研究代表者は、近年、破骨細胞分化における DNA メチル化制御の重要性を見出した研究成果を端緒にして、新たに探索した DNA メチル基転移酵素の阻害剤 TF3 が、破骨細胞形成を抑制することで骨粗鬆症病態を改善する効果をもつことを実証した (*Nature Medicine* 21, 281-7, 2015)。

本研究では、がん細胞の骨転移モデルマウスを用いて、DNA メチル基転移酵素の新規阻害剤 TF3 ががん細胞の骨転移に対して治療効果をもつかどうかを検討することを目的とする。これら治療実験を端緒に、破骨細胞のエピジェネティック制御を標的とした骨転移治療の有効性を明らかにすることで、破骨細胞のエピゲノム創薬をがん治療のための新たな基盤研究として発展させることを目標に掲げる。

## 2. 研究方法

本研究では、下記 2 点の研究計画を実施した。

### 2-1. TF3 を用いた DNA メチル基転移酵素の阻害実験

哺乳類においては、DNA メチル基転移酵素は 3 つのパラログ (Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b) が同定されている。そこで、各 DNA メチル基転移酵素に対する TF3 の阻害効果を検討するために、各 DNA メチル基転移酵素の組み換えタンパク質を用いて、*in vitro* のメチル化アッセイを試みた。そして、当該アッセイ系に TF3 を添加することで、各 DNA メチル基転移酵素の DNA メチル化活性に対する阻害効果を比較した。

### 2-2. 骨転移モデルマウスの作出と TF3 を用いた治療実験

マウス悪性黒色腫細胞 (B16BL6 細胞) を左心室に  $10^5$  細胞移植を行い、2 週間後に骨

組織を解析し、がん細胞の骨への生着の是非を解析した。実際には、骨組織のマイクロCT( $\mu$ CT)解析や脱灰骨の病理組織標本を用いることで解析を行った。さらに、当該マウスに対してTF3の経日投与を行うことで、がんの骨転移に対するTF3の治療効果を検討した。

### 3. 研究成果

#### (1) TF3を用いたDNAメチル基転移酵素の阻害実験

TF3はいずれのDNAメチル基転移酵素に対しても酵素活性を抑制する効果をもつことが明らかとなった。しかし、TF3は、Dnmt1と比べて、Dnmt3aおよびDnmt3bに対してより高い阻害効果をもつことが明らかとなった(図1)。以上の結果から、TF3はDnmt3に対して特異的な阻害剤であることが考えられる。

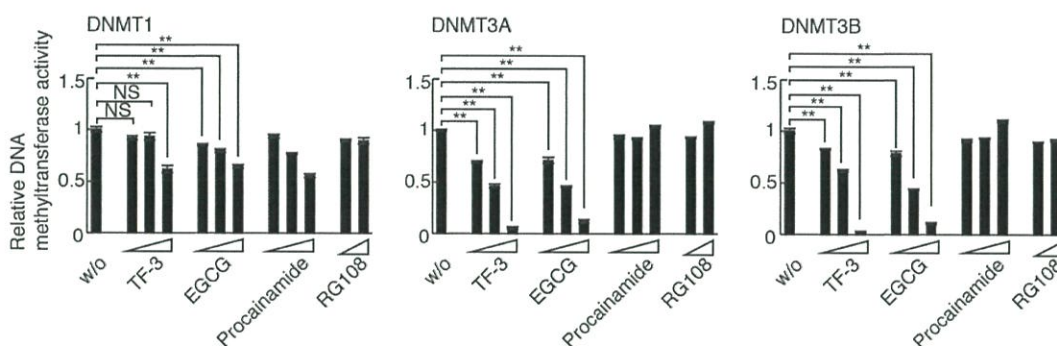


図1 DNAメチル基転移酵素の酵素活性に対する阻害実験

#### (2) 骨転移モデルマウスの作出とTF3を用いた治療実験

B16BL6細胞を移植後に骨組織を観察したところ、悪性黒色腫細胞が骨に生着した病態が観察された。そこで、当該骨転移モデルマウスに対してTF3の経日投与を行った。その結果、TF3投与群においては、骨組織内のB16BL6細胞の数が有意に減少する結果が得られた(図2)。以上の結果から、がんの骨転移に対して、DNAメチル基転移酵素は有効な創薬標的となることが示唆される。

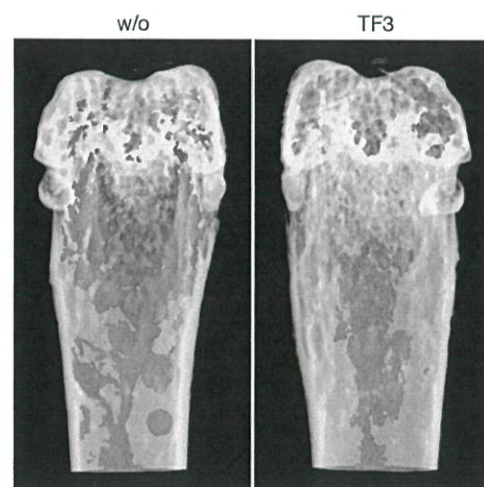


図2 がんの骨転移モデルに対するTF3の治療効果

#### 4. 考察

本研究によって DNA メチル化酵素の新規阻害剤 TF3 には、B16BL6 細胞の骨転移を抑制する効果があることが明らかとなった。これは、研究代表者が既に報告している破骨細胞に対する阻害効果に加えて、TF3 がもつがん細胞増殖効果が協調的に作用した可能性がある。今後は、骨転移能が高い乳がん細胞や前立腺がん細胞などの他のがん細胞種を用いた病態モデルによる検証を行うことで、TF3 がもつがんの骨転移抑制効果の汎用性を明らかにすることを計画している。

#### 5. 発表論文

該当なし